

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Weitere Studien zur Frage einer immunologischen Wachstumshemmung maligner Tumoren

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Hendrick Flügel
aus
Kulmbach

D 29

1970 # 339

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. med. H. Valentin
Referent: Prof. Dr. med. F. Scheiffarth
Tag der mündlichen Prüfung: 30. Juli 1970

Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses Erlangen-
Nürnberg (Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth)

Weitere Studien zur Frage einer immunologischen Wachstumshemmung maligner Tumoren

H. GÖTZ und H. FLÜGEL

Die vorliegende Arbeit stellt eine Fortführung von Studien zur Induktion einer aktiven, tumorspezifischen Immunitätslage mit dem Endziel einer Art Transplantatabstossung der inokulierten Tumoren dar [5, 15, 17].

In einer neugewählten Versuchsanordnung wurde nicht Protein^{homogenat}, sondern intaktes Zellfiltrat rattentransplantabler Tumoren mit einem spezieisfremden Transferrin gekoppelt und den tumortragenden Tieren reappliziert. Absicht dieser Versuchsanordnung war, durch die Koppelung der Tumorzellen an Fremdprotein eine Antigen-Abwandlung der Tumorzellen, insbesondere deren Oberfläche, zu erreichen. Der tumortragende Organismus sollte nunmehr seine bislang offenbar tolerierten Tumorzellen als fremd registrieren und eine aktive Antikörperbildung im Sinne der Transplantationsreaktion induzieren.

Diese Modellversuche mit polyvalentem Zellfiltrat werden im Rahmen der experimentellen Tumorforschung noch solange einen festen Platz einnehmen, bis ein derzeit noch hypothetischer tumor- bzw. malignomspezifischer Faktor aus spontan gewachsenen Tumorzellverbänden mit der Möglichkeit einer erfolversprechenden Autoimmunisierung isoliert ist.

Eingegangen: 24. September 1969.

I. Untersuchungsgut und Versuchsanordnung

1. Untersuchungsgut

Für den vorliegenden Gesamtversuch wurden 45 Wistar-Ratten¹ mit einem durchschnittlichen Gewicht von 200 g in Versuch genommen. Dabei wurden zwei Gruppen gebildet, eine als Hauptversuchsgruppe (35 Tiere), die andere als Kontrollgruppe (10 Tiere).

2. Versuchsanordnung

Vor Versuchsbeginn sowie am Ende des Versuches wurden die Seren sämtlicher Tiere auf zirkulierende Tumorantikörper sowie auf Veränderungen der Serumeiweisskörper hin untersucht. Dabei kamen folgende Methoden zur Anwendung: passive Hämagglutinationsreaktion nach *Boyden*, zweidimensionale Immunodiffusion nach *Ouchterlony*, Zelluloseazetatfolien-Elektrophorese (CAF) sowie Immunoelektrophorese nach *Grabar* und *Williams*.

Sämtliche Tiere der Hauptversuchsgruppe erhielten ein mit der BDB-Technik hergestelltes Tumor-Humantransferrin-Präparat subcutan appliziert. Dabei wurde jedem Tier eine bestimmte Menge mehrfach während eines Zeitraumes von 10 Tagen injiziert; am 10. Tag nach Behandlungsbeginn wurde nunmehr Tumor inokuliert.

Den bis dahin unbehandelten Ratten (Kontrollgruppe) wurde lediglich Tumorzellfiltrat transplantiert.

Die Tiere beider Versuchsgruppen wurden nunmehr ohne weitere Behandlung belassen und täglich beobachtet.

Während der Versuchszeit wurden sämtliche Tiere (Hauptversuchsgruppe und Kontrollgruppe) nach den Ausgangswerten vor der Transplantation des Tumormaterials ein erstes Mal kontrolliert, wobei Serum gewonnen wurde, welches auf präzipitierende Tumorantikörper und Transferrinantikörper sowie auf seine Serumeiweisskonstellation hin untersucht wurde. Eine weitere Kontrolle mit den gleichen Nachweisreaktionen erfolgte am 25. Tag nach Versuchsbeginn, nach Abschluss der Sensibilisierungsserie und der Transplantation.

In der weiteren Beobachtungszeit wurden die jeweils moribunden Tiere entblutet und den bisherigen Serumkontrollen unterworfen. Schliesslich wurde am 95. Tag nach Versuchsbeginn die Beobachtung der bis dahin überlebenden Tiere beendet, die Ratten getötet, entblutet und das Serum einer letzten Kontrolluntersuchung unterzogen (siehe Schema in Abb. 1).

II. Methodisches

1. Serumgewinnung

Die Tierseren wurden durch einfaches Kappen des Schwanzes der flüchtig narkotisierten Ratten gewonnen. Dabei wurde das in Spitzröhrchen aufgefangene Blut wenigstens zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen und danach 10 min lang bei 2500 Upm zentrifugiert. Abgesehen von einigen nur leicht hämo-

¹ Wistar-Ratten der Fa. Kramer, Köln.

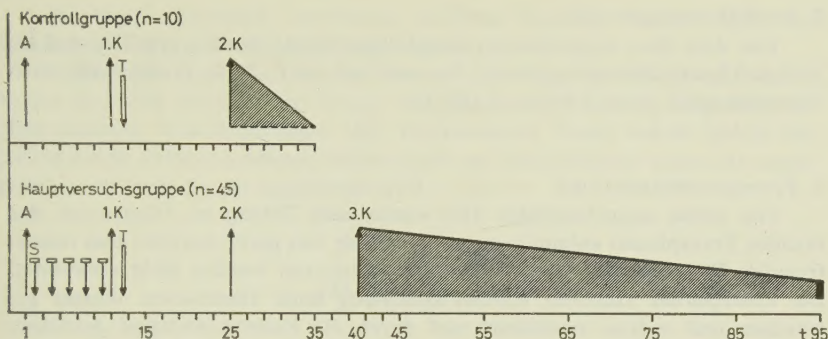


Abb. 1. Schema zur Versuchsanordnung. K = Kontrolluntersuchung. A = Ausgangswert. S = Sensibilisierung. T = Tumortransplantation.

lytischen oder gering lipämisch getrübbten Seren, wurden prinzipiell nur klare Seren für die weiteren Untersuchungen verwendet. Ein Teil der Seren wurde sofort der Untersuchung zugeführt, ein anderer Teil wurde vorübergehend tiefgefroren².

2. Aufbereitung des für die Sensibilisierung verwendeten antigenen Materials

Für die Gewinnung von Tumorzellfiltrat und Tumorphomogenat wurde Walker-Karzinom von tumortragenden Ratten gewählt³. Die Aufbereitung des für die Sensibilisierung verwendeten antigenen Materials erfolgte im Prinzip nach der BDB-Methode⁴. Frisches, von Bindegewebe befreites Tumorgewebe wurde durch die Embryonenpresse gepresst und als 2,5%ige Suspension in physiologischer NaCl-Lösung hergestellt. 0,25 ml dieser Suspension wurden zu 5 ml einer 0,4%igen Humantransferrinlösung⁵ und 10 ml Sörensen-Puffer⁶ gegeben. Danach wurden 0,1 ml einer zweiten Lösung hinzugefügt, welche Benzidinreagenz⁷ und Sörensen-Puffer im Verhältnis 1 : 4 enthielt. Diese Mischung wurde bei Zimmertemperatur 10 min lang stehengelassen. Nach Abzentrifugieren und Verwerfen des Überstandes wurde dreimal mit Sörensen-Puffer gewaschen und anschließend mit physiologischer NaCl-Lösung auf 10 ml aufgefüllt. Das Tumorphomogenat für den Nachweis zirkulierender Antikörper wurde durch Homogenisieren von Tumorgewebspartikeln mit Hilfe des Ultra-Turrax-Zerstäubers⁸ gewonnen.

² BBC-Gefriertruhe.

³ Tumortragende Ratten wurden freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. med. Grundmann, Bayer/Leverkusen, zur Verfügung gestellt.

⁴ Siehe bei N. Henning, Klinische Laboratoriumsdiagnostik, Urban & Schwarzenberg, S. 307 (1966).

⁵ Behringwerke, Marburg/Lahn, Op.-Nr. 167.

⁶ Sörensen-Pufferlösung: 0,15 m Na_2HPO_4 + 0,15 m KH_2PO_4 , pH 7,4.

⁷ Benzidinreagenz: 0,23 g Benzidin p.a. in 45 ml 0,2 n HCl + 0,1765 g NaNO_2 in 5 ml aqua dest. gelöst; Lösung wird vor Gebrauch bei 0° C 30 min gekühlt.

⁸ Ultra-Turrax-Zerstäuber (20 000 Upm) der Fa. Janke & Kunkel, Oberstaufen.

3. Sensibilisierungsmodus

Von dem oben beschriebenen Kupplungspräparat wurden pro Tier und Injektion 0,5 ml subkutan appliziert. Dies erfolgte am 1., 3., 5., 7. und 9. Tag nach Versuchsbeginn (siehe Schema in Abb. 1).

4. Transplantationstechnik

Von einem tumortragenden Tier wurde nach Tötung im Ätherrausch das maligne Transplantat entnommen und sorgfältig von peritumoralem und tumorfremdem Bindegewebe befreit. Nekrotische Tumoren wurden nicht verwendet. Die exstirpierten Tumoren wurden kurzfristig unter fließendem Wasser gewaschen und sodann zerkleinert und durch die Embryonenpresse getrieben. Das so gewonnene Zellfiltrat wurde mit physiologischer NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 4 verdünnt und unter weitgehender Einhaltung steriler Verhältnisse subkutan unter die seitliche Bauchhaut injiziert. Allgemein wurden 0,5 ml pro Tier und Inokulationsstelle appliziert.

5. Antikörperrnachweismethoden

a) Passive Hämagglutinationsreaktion. Zum Nachweis agglutinierender Antikörper gegen Humantransferrin sowie Tumorhomogenat wurde die Methode der passiven Hämagglutinationsreaktion nach *Boyden* [1] angewandt.

b) Zweidimensionale Immunodiffusion. Zum Nachweis präzipitierender Antikörper gegen Humantransferrin sowie Tumorhomogenat wurde die zweidimensionale Immunodiffusion nach *Ouchterlony* [12] angewandt.

6. Elektrophoresetechniken

a) CAF-Elektrophorese. Auf handelsüblichen, pufferfeuchten Elektrophoresefolien⁹ wurden pro Streifen 0,001 ml Serum aufgetragen. Danach wurden die Streifen in eine mit Pufferlösung (pH 8,2; $\mu = 0,05$) gleichmässig gefüllte Kammer¹⁰ verbracht. Unter einer Spannung von 200 V erfolgte innerhalb von durchschnittlich 70 min die elektrophoretische Auftrennung der Serumproteine. Anschliessend wurden die Streifen für 5 min in ein Färbabad verbracht, das 0,5%-iges Amidoschwarz 10 B in Methanol/Eisessig im Verhältnis 9 : 1 enthielt. Die anschliessende Entfärbung erfolgte dreimal 5 min lang in jeweils wechselnden Entfärberlösungen von Methanol/Eisessig im Verhältnis 9 : 1. Nun wurden die Folien blasenfrei auf eine Glasplatte aufgestrichen und 5 min lang in ein Transparenzbad¹¹ eingelegt. Nach Erzielung einer vollständigen Transparenz wurden die Glasplatten 10 min lang bei 105°C getrocknet. Die Auswertung erfolgte photometrisch¹².

⁹ Selecta-Elektrophoresefolien der Fa. Schleicher & Schüll; Vertrieb durch Fa. Bender & Hobein, München.

¹⁰ Multelphorkammer der Fa. Bender & Hobein, München.

¹¹ Transparenzbad der Fa. Bender & Hobein, München.

¹² Extinktionsschreiber der Fa. Carl Zeiss, Oberkochen.

Die elektrophoretisch ermittelten relativen Prozente wurden nach den klassischen Angaben der Statistik ausgewertet [10].

b) Immunoelktrophorese. Die Immunoelktrophorese wurde im wesentlichen nach den Angaben von *Grabar* und *Williams* [6, 8, 9, 20] bzw. nach der Mikromethode von *Scheidegger* [13] vorgenommen. Dabei wurde jeweils das Rattenserum elektrophoretisch differenziert und anschliessend gegen ein spezifisches Anti-Ratte-Serum auspräzipitiert¹³.

III. Ergebnisse

1. Beobachtungen an den Tieren

In der Hauptversuchsgruppe war erst 14 Tage nach Transplantation ein Tier eingegangen. Es zeigte sich ein nekrotisierender Tumor, am Tier selbst eine allgemeine Tumorkachexie. Zwischen dem 19. und 33. Tag nach Transplantation verstarben sukzessive 17 weitere Ratten, zumeist an Kachexie. Die Tumoren waren makroskopisch in den meisten Fällen zentral exulzeriert, das Grössenausmass insgesamt einer Kirsche entsprechend. Bis zum 68. Tag nach Transplantation gingen nochmals zwei Tiere ein. Von da an überlebten 16 Tiere aus der Hauptversuchsgruppe, wobei die vormals kirschgrossen Tumoren «klinisch» nicht mehr nachweisbar waren und das Grössenwachstum der Ratten auffallend zugenommen hatte. Ausserdem normalisierte sich das Fell der Tiere, das wenige Tage nach der Transplantation erheblich gelichtet war und an Glanz verloren hatte. Diese letzten Tiere wurden am 95. Tag nach Versuchsbeginn getötet, ohne dass sie Krankheitszeichen oder unphysiologische Reaktionen geboten hätten.

Im Vergleich hierzu war in der Kontrollgruppe, in welcher lediglich Tumorzellfiltrat transplantiert worden war, bereits am 14. Tag nach Transplantation ein Ausfall von zwei Tieren zu registrieren. Nachdem nun laufend weitere Ratten eingingen, verstarb am 35. Tag nach Transplantation das letzte Tier der Kontrollgruppe. Makroskopisch bot sich in allen Fällen ein bis zu Pflaumengrösse herangewachsener Walker-Tumor mit vielfach zentraler Exulzeration und Sekundärinfektion sowie allgemein schwere Tumorkachexie.

¹³ Anti-Ratte-Serum vom Kaninchen, Behringwerke, Marburg/Lahn, Op.-Nr. 641 AD.

2. Verhalten der Serumeiweisskörper

In der Hauptversuchsgruppe kam es bereits unter der Sensibilisierung zu einer Dysproteinämie mit Verminderung der Albumine und Anstieg vor allem der α_1 -, geringfügig auch der α_2 - und der α_2/β -Fraktionen. Post transplantationem vertiefte sich die Dysproteinämie mit starker Hypalbuminämie, deutlichem Anstieg der α_1 -Globuline, weiterhin auch der α_2 - und α_2/β -Globuline sowie mit einer Verminderung der γ -Globuline. Dieser Dysproteinämietyp zeigte sich auch bei den verbliebenen Tieren zum Zeitpunkt der dritten Kontrolle. Dabei erwiesen sich die Verminderung der Albumine und γ -Globuline ebenso wie die Vermehrung der α_1 -Globuline als signifikant ($P = 0,01$).

Demgegenüber zeigten die Eiweissfraktionen der 16 überlebenden Tiere am Ende der Beobachtungszeit weitgehend normalisierte Relationen. Es fielen lediglich noch eine relativ starke α_1 -Vermehrung sowie eine mässige Hypogammaglobulinämie auf.

In der Kontrollgruppe waren nach der zweiten Kontrolle, d. h. nach der Tumortransplantation, eine Hypalbuminämie und die Vermehrung sämtlicher α -Globuline offensichtlich. Diese Dysproteinämie vertiefte sich bis zum Ende der Beobachtung der Kontrolltiere (35. Versuchstag). Die Verminderung der Albumine sowie die Vermehrung der α_1 - und α_2 -Globuline waren signifikant ($P = 0,01$).

Die immunoelektrophoretischen Analysen nach Trennung der Tierseren und Diffusion eines spezifischen, polyvalenten Anti-Ratte-Serums zeigten lediglich Phänomene, wie sie den Relationsänderungen der CAF-Elektrophorese gleichkommen. Qualitative Besonderheiten, etwa das Auftreten von Paraproteinen oder Präzipitatspaltungen, konnten in den vorliegenden Präzipitationsmustern nicht wahrgenommen werden.

3. Nachweis agglutinierender Antikörper

Die passive Hämagglutinationsreaktion, die zum Nachweis spezifischer Humantransferrin-Antikörper und zum Nachweis spezifischer Tumorantikörper angewandt wurde, wurde nur mit den Seren der unbehandelten Tiere und mit den Seren der Schlusskontrolle beider Gruppen vorgenommen.

a) *Gegen Humantransferrin.* Die Ausgangsseren der 45 in Versuch genommenen Tiere ergaben nur in einem Fall eine schwach positive Agglutinationsreaktion bis zu einer Verdünnung des Rat-

tenserums von 1 : 2. Alle übrigen waren einwandfrei negativ. Die Kontrolluntersuchungen mit den Seren der 16 verbliebenen Tiere der Hauptversuchsgruppe ergaben durchweg positive Hämagglutinationsreaktionen mit Titerstufen zwischen 1 : 32 und 1 : 512. Die häufigsten positiven Reaktionen wurden bei 1 : 32 sowie 1 : 64 wahrgenommen. In der Kontrollgruppe war bei einem Tier der 5 verbliebenen Ratten eine schwach positive Reaktion mit dem unverdünnten Serum nachweisbar. Schon bei einer Verdünnung von 1 : 2 war diese Reaktion bereits geschwunden.

b) *Gegen Tumorhomogenat.* Die Hämagglutinationsreaktion mit den Ausgangsseren zeigte in keinem Fall ein sicher positives Ergebnis. Dagegen fiel in 16 Fällen eine Spontanhämolyse der mit Tumor beladenen Erythrozyten auf. Die Seren der letzten Blutabnahme der Hauptversuchsgruppe ergaben insgesamt siebenmal (von 16) eine positive Agglutinationsreaktion mit Titern zwischen 1 : 2 und 1 : 16. Alle übrigen Seren fielen der Hämolyse anheim. Die letztabgenommenen Seren der verbliebenen 5 Kontrolltiere ergaben unter Verwendung von tumorbeladenen Erythrozyten in einem Fall eine positive Agglutination bis zu einem Titer von 1 : 2. Die vier übrigen waren wiederum stark hämolytisch geworden (siehe Tab. I).

4. Nachweis präzipitierender Antikörper

Die Befunde des zweidimensionalen Doppeldiffusionstests im Agargel nach *Ouchterlony* sind in Tabelle II zusammengestellt. Die Ausgangsseren erbrachten sowohl bei Ansatz mit Humantransferrin als auch bei Versuchsanordnung mit Tumorhomogenat nur negative Ergebnisse.

a) *Untersuchungen mit Humantransferrin.* Bei sämtlichen Tieren der Hauptversuchsgruppe war von der 1. Kontrolle an bis einschliesslich der Endwertanalyse ein mehr oder weniger deutliches Präzipitat nachweisbar. Die Seren der Kontrollgruppe blieben dagegen negativ.

b) *Untersuchungen mit Tumorhomogenat.* In der Hauptversuchsgruppe waren bei den verschiedenen Kontrolluntersuchungen ungesetzmässige Präzipitate mit unscharfer Begrenzung zumeist in der Nähe der Antigenauftragung (Tumorhomogenat) nachweisbar. Sie verschwanden zumeist nach Wässerung in physiologischer NaCl-Lösung. In der Kontrollgruppe waren in zwei Fällen ähnliche Phänomene nachweisbar.

TABELLE I

Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach Boyden

	Tier-Nr.	Human- transferrin	Tumor- homogenat
Hauptversuchsgruppe	1	1 : 512	häm.
	2	1 : 64	häm.
	3	1 : 512	häm.
	4	1 : 64	1 : 2
	5	1 : 512	häm.
	6	1 : 64	häm.
	7	1 : 32	1 : 16
	8	1 : 32	häm.
	9	1 : 32	häm.
	10	1 : 32	häm.
	11	1 : 64	1 : 4
	12	1 : 32	1 : 8
	13	1 : 64	1 : 4
	14	1 : 32	1 : 8
	15	1 : 32	1 : 2
	16	1 : 64	häm.
Kontrollgruppe	1	häm.	häm.
	2	häm.	häm.
	3	1 : 1	1 : 2
	4	häm.	häm.
	5	häm.	häm.

TABELLE II

Ergebnisse des zweidimensionalen Doppeldiffusionstests nach Ouchterlony

Kontrolle	n	Präzipitationsreaktion		n	Präzipitationsreaktion	
		Trans- ferrin	Tumor- homogenat		Trans- ferrin	Tumor- homogenat
A	35	Ø	Ø	10	Ø	Ø
I. K.	35	+	Ø	10	Ø	Ø
II. K.	27	+	Ø	5	Ø	Ø
III. K.	18	+	Ø	—	—	—
E	16	+	Ø	5	Ø	Ø
Hauptversuchsgruppe				Kontrollgruppe		

Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche haben gezeigt, dass nach zehntägiger Vorbehandlung von Ratten mit einem an Hetero-Transferrin gekoppelten Tumorzellfiltrat (rattentransplantables Walker-Karzinom) das Transplantat unbehandelter Walker-Karzinomzellen zwar angegangen und bis zu Kirschgrösse herangewachsen war, in 46% der Fälle aber völlig zurückgedrängt wurde. Diese 46% der Versuchstiere in der Hauptversuchsgruppe blieben bis über einen Beobachtungszeitraum von 95 Tagen remissionslos im Sinne der Heilung. Die Überlebenszeit der übrigen 54% dieser Versuchsgruppe erwies sich im Vergleich mit einer nicht vorbehandelten, jedoch mit Tumor transplantierten Tiergruppe als um ein Vielfaches überlegen. Während in der letztgenannten Kontrollgruppe am 35. Beobachtungstag das letzte Tier einging, betrug in der Gruppe der vorbehandelten die Überlebensrate am 33. Beobachtungstag noch 54%, am 68. Beobachtungstag noch 49% und am 95. Beobachtungstag noch 46%; zu diesem Zeitpunkt wurden die überlebenden Tiere getötet.

Im Vergleich zu früheren tierexperimentellen Studien mit jeweils anderer Versuchsanordnung [5, 14] liegt der Prozentsatz der geheilten Tiere in den vorliegenden Versuchen wesentlich höher. So konnte bei Isosensibilisierungsversuchen in nur 33,3% der Fälle eine völlige, remissionslose Heilung erzielt werden. Bei Anwendung von heterologen Erythrozyten bzw. heterologem Gammaglobulin als Koppelungsfaktoren konnte mit der Koppelung von Tumorzellen an Kaninchen- γ -Globulin in 25% der Fälle eine völlige Rückbildung der zunächst angegangenen Transplantate erzielt werden, während mit dem Erythrozyten-Tumor-Komplex keine remissionslose Heilung erreicht wurde. Der wesentlich günstigere Effekt bei Koppelung von Tumorzellen an ein heterologes Transferrin mag damit in Zusammenhang zu bringen sein, dass Humantransferrin ein relativ einheitlicher Eiweisskörper mit hohem Kohlehydratanteil ist, während γ -Globulin einen Komplex mit Subfraktionen und Isomeren darstellt. Homogene Proteine besitzen erfahrungsgemäss [2] einen grösseren antigenen Effekt als heterogene.

Die Rückbildung der Tumoren in den genannten 46% ist u. E. als Ausdruck einer Transplantationsreaktion mit Abstossung der inokulierten Tumorzellen aufzufassen. Hierbei wirkt das durch

Bisdiazotierung gekoppelte Transferrin als maskierender Faktor der Tumorzellen, gegen welchen spezifische Antikörper gebildet werden. Gleichzeitig kommt es aber auch zu einer Antikörperbildung gegen das an Transferrin gekoppelte Tumorphprotein. Diese Antikörperbildung konnte nachgewiesen werden. Da gleichzeitig die Voraussetzung gegeben war, dass intaktes Zellmaterial und nicht Tumorphomogenat zur Sensibilisierung verwendet wurde, darf angenommen werden, dass die immunologische Reaktion im Sinne einer Transplantationsreaktion abgelaufen ist und dass die zirkulierenden Antikörper als Indikatorfaktoren, wie sie bei jeder Transplantationsreaktion allgemein in Erscheinung treten, zu werten sind. Auf Grund früherer Erfahrung [3, 15, 17, 18, 19] kommt es nach Transplantation unveränderten Tumormaterials von Walker-Karzinom in keinem Fall zu einer Transplantatabstossung und auch zu keinen Spontanremissionen. Die ratten-transplantablen Walker-Karzinome verhalten sich somit wie spontan gewachsene Tumoren, wie sie in der Humanpathologie den weitaus grössten Prozentsatz darstellen. Es erscheint deshalb das Modell des Walker-Karzinoms als ein ausserordentlich günstiges für das Studium des Verhaltens von Spontanumoren.

Die Serumeiweissrelationen im Verlauf des Versuches bestätigen indirekt in der Hauptversuchsgruppe ebenso wie in der Kontrollgruppe den mit Tumorphinokulation einhergehenden Eiweisskatabolismus. Es kommt zu einer tiefgreifenden Dysproteinämie, die im Fall der Kontrolltiere extreme Verschiebungen erkennen lässt und die im Fall der geheilten Tiere eine weitgehende Normalisierung aufweist.

Mit den vorliegenden Ergebnissen konnte insgesamt gezeigt werden, dass unter Ausnutzung eines Heterosensibilisierungseffektes eine gezielte immunologische Therapie maligner Tumoren möglich wird.

Zusammenfassung

Wistar-Ratten wurden mit einem an heterologes Transferrin gekoppelten Zellfiltrat des ratten-transplantablen Walker-Karzinoms 10 Tage lang mit subkutanen Injektionen vorbehandelt und anschliessend mit unverändertem Walker-Tumorzellfiltrat transplantiert. Einer gleichzeitig beobachteten Gruppe von Tieren wurde nur Tumor transplantiert. In der vorbehandelten Gruppe wurde in 46% aller Fälle eine völlige, remissionslose Rückbildung der zunächst herangewachsenen transplantierten Tumoren festgestellt. Die Kontrollgruppe wies

demgegenüber bereits am 35. Tag nach Versuchsbeginn keine Überlebenden mehr auf. Es wird angenommen, dass die Abstossung auf dem Boden einer Transplantationsreaktion erfolgt ist. Es wurden zirkulierende Antikörper sowohl gegen Transferrin als auch gegen Tumorprotein nachgewiesen. In der Kontrollgruppe wurden keine Antikörper gegen Walker-Karzinom fassbar.

Summary

Wistar rats have been pre-treated for 10 days with subcutaneous injections of a Walker carcinoma cell filtrate, which has been combined with a heterologous transferrin. After this period of procedure the rats acquired a native cell filtrate of Walker carcinoma by implantation. In another group of rats observed contemporaneously, only tumour cells were implanted. Among the pre-treated group in 46%, a complete disappearance of the grown up tumours was noted. On the contrary, the control group already showed no survivors on the 35th day after beginning the experiment. The involution of the tumours in the first group is supposed to be a result of transplantation reactions. Circulating antibodies were observed against transferrin as well as against tumour proteins. In the control group, antibodies against Walker carcinoma were not detected.

Literatur

1. Boyden, S. V.: The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. exp. Med.* 93: 107 (1951).
2. Doerr, R.: Die Immunitätsforschung, Bd. III, Antigene (Springer, Wien 1948).
3. Götz, H.; Scheiffarth, F.; Warnatz, H. und Klobe, U.: Serologische und immunologische Studien an tumortragenden Ratten unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Mittl. II. Walker-Tumoren. (Für den Druck vorbereitet.)
4. Götz, H.; Scheiffarth, F. und Zimmer, Ch.: Vergleichende Untersuchungen über die antigene Wirkung verschiedener gereinigter Serumproteine. II. Mitteilung. *Z. Naturforsch.* 165: 61 (1961).
5. Götz, H. und Schöfthaler, R.: Immunologisch verursachte Wachstumshemmung maligner Tumoren. *Z. Krebsforsch.* (zum Druck angeboten).
6. Grabar, P.: a) Études sur les protéines à l'aide de méthodes immunochimiques. *Bull. Soc. Chim. biol.* 36: 65 (1954). — b) Die Anwendung immunchemischer Methoden bei der Untersuchung der Proteine, insbesondere der Serumproteine. *Dtsch. med. Wschr.* 79: 1916 (1954).
7. Grabar, P. et Burtin, P.: Analyse immuno-électrophorétique. Application aux liquides biologiques humains (Masson & Cie., Paris 1960).
8. Grabar, P. et Williams, C. A.: a) Méthode permettant l'étude conjuguée et des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines; application au sérum sanguin. *Biochim. biophys. Acta* 10: 193 (1954). — b) Méthode immuno-électrophorétique d'analyse de mélanges de substances antigéniques. *Biochim. biophys. Acta* 17: 67 (1955).

9. *Henning, N.*: Klinische Laboratoriumsdiagnostik, 3. Auflage (Urban & Schwarzenberg, München 1966).
10. *Linder, A.*: Statistische Methoden für Mediziner, Naturwissenschaftler und Ingenieure (Birkhäuser, Basel 1964).
11. *Nadler, S. and Moore, G.*: a) Immunologische Krebstherapie. Dtsch. Ärztebl. 3 (1966). — b) Evaluation of the effectiveness of immunologically activated lymphoid cells against cancer cells. Surg. Forum 16: 229 (1965). — c) Clinical immunologic study on malignant disease: Response to tumor transplants and transfer of leucocytes. Ann. Surg. 164: 482 (1966). — d) Autotransplantation of human cancer. J. amer. med. Ass. 191: 105 (1965).
12. *Ouchterlony, Ö.*: a) Diffusion-in-gel methods for immunological analyses. Progr. Allergy 5: 1 (1958). — b) Gel-diffusion techniques. 15. Coll. d. Ges. f. physiol. Chemie in Mosbach/Baden (1964).
13. *Scheidegger, J. J.*: Une micro-méthode de l'immuno-électrophorèse. Int. Arch. Allergy 7: 103 (1955).
14. *Scheiffarth, F.; Götz, H. und Dutschke, A.*: Vergleichende Untersuchungen über die antigene Wirksamkeit verschiedener gereinigter Serumproteinfraktionen. I. Mitteilung. Z. Naturforsch. 15 b: 156 (1960).
15. *Scheiffarth, F.; Götz, H. und Lehr, E.*: Tierexperimentelle Studien zur Frage einer Isosensibilisierung mit Tumorproteinen. I. Mitteilung: Sensibilisierungs- und gekreuzte Transplantationsversuche an ein und demselben Tierstamm. Z. exp. Med. 19: 86-94 (1968).
16. *Scheiffarth, F.; Götz, H. und Mayer, H.*: Vergleichende Untersuchungen über die antigene Wirksamkeit verschiedener gereinigter Serumproteinfraktionen. III. Mitteilung. Z. Naturforsch. 163: 186 (1961).
17. *Scheiffarth, F.; Götz, H. und Mundhenke, U.*: Tierexperimentelle Studien zur Frage einer Isosensibilisierung mit Tumorproteinen. II. Mitteilung: Austauschtransplantationen an Tieren verschiedener Zuchtstämme. Z. exp. Med. 18: 95-102 (1968).
18. *Scheiffarth, F.; Götz, H.; Warnatz, H. und Günther, K.*: Serologische und immunologische Studien an tumortragenden Ratten unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Mittl. I. Yoshida-Tumoren. (Für den Druck vorbereitet.)
19. *Scheiffarth, F.; Warnatz, H.; Götz, H. und Rohrwasser, M.*: Immunologische Studien an Walker-Carcinom und Yoshida-Sarkom. Z. Krebsforsch. 70: 178 (1967).
20. *Williams, C. A. and Grabar, P.*: Immuno-electrophoretic studies on serum proteins. I. The antigens of human serum. J. Immunol. 74: 158 (1955).

L e b e n s l a u f

Am 26. Mai 1945 wurde ich als Sohn des Oberleutnants Wilhelm Flügel (gef. April 1945) und seiner Ehefrau Leonore, geb. Zeitler, in Kulmbach geboren.

Von 1951 bis 1955 besuchte ich die Volksschule in Kulmbach, von 1955 bis 1964 das dortige Friedrich-Wilhelm- Gymnasium. Am 22. Juli 1964 bestand ich die Reifeprüfung. Im Wintersemester 1964 begann ich mein Medizinstudium in Erlangen. Am 2. November 1965 legte ich die naturwissenschaftliche, am 9. Mai 1967 die ärztliche Vorprüfung ab. Nach dem Wintersemester 1969 beendete ich mein Studium. Am 22. Juli 1970 bestand ich die Ärztliche Prüfung.

